Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

ZUR EN-BLOC-PROTEINBIOSYNTHESE DER MILZ SOWIE EINIGER LIENALER ZELLPOPULATIONEN NACH SPLENOMEGALIE INFOLGE APPLIKATION VON BORDETELLA PERTUSSIS

Flüssigkeitsszintillationsphotometrie und histoautoradiographische Untersuchung mit ^{3}H-l-Phenylalanin an Mäusen [+]

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Dietmar Krammenschneider

aus Bielefeld

Würzburg, 9.6.1980

[+]Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, SFB 105, Teilprojekt B 4

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

ZUR EN-BLOC-PROTEINBIOSYNTHESE DER MILZ SOWIE EINIGER LIENALER ZELLPOPULATIONEN NACH SPLENOMEGALIE INFOLGE APPLIKATION VON BORDETELLA PERTUSSIS

Flüssigkeitsszintillationsphotometrie und histoautoradiographische Untersuchung mit ^{3}H-l-Phenylalanin an Mäusen [+]

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Dietmar Krammenschneider

aus Bielefeld

Würzburg, 9.6.1980

[+]Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, SFB 105, Teilprojekt B 4

Referent: Professor Dr. E. Stöcker

Korreferent: Professor Dr. H.-W. Altmann

Dekan: Professor Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 18.11.1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meiner Mutter

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0076

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A. VORAUSSETZUNG UND FRAGESTELLUNG	1
B. MATERIAL UND METHODIK	3
1. Tiermaterial und Vorbehandlung	3
2. Applikation von ^{3}H-l-Phenylalanin	3
3. Autoradiographische Technik	4
4. Autoradiographische Auswertung	5
5. Gewebsveraschungen	6
6. "Liquid Scintillation Counting"	6
C. ERGEBNISSE	7
1. Milz-Index = mg Milzgewicht/g Mausgewicht	7
2. Quantitative Autoradiographie	7
a) Megakaryozyten	7
b) Blasten	8
3. Morphometrie	9
4. "Liquid Scintillation Counting"	10
a) Milz	10
b) Leber	12
D. DISKUSSION	13
E. ZUSAMMENFASSUNG	19
F. ANHANG (Abbildungen, Figuren, Tabellen)	21
G. LITERATURVERZEICHNIS	41

Zur en-bloc-Proteinbiosynthese der Milz sowie einiger lienaler Zellpopulationen nach Splenomegalie infolge Applikation von Bordetella pertussis

Flüssigkeitsszintillationsphotometrie und histoautoradiographische Untersuchung mit ^{3}H-l-Phenylalanin an Mäusen+

A. VORAUSSETZUNG UND FRAGESTELLUNG

Histologische sowie auch biochemische und schließlich autoradiographische Untersuchungen an der Milz von Mäusen nach i.p. Verabfolgung von Bordetella pertussis (= pertussis organism = PO) haben gezeigt, daß neben einer Volumenzunahme des Kerns differenter lienaler Zellpopulationen ein vermehrter Gehalt von Proteinen in solchen Zellen ebenso wie ein gesteigerter Stoffwechsel der zellulären Eiweiß-Biosynthese stattfindet (FINGER und STÖCKER, 1972; STÖCKER und FINGER, 1972; FINGER und EMMERLING, 1968; EMMERLING, FINGER und BERTZ, 1971; FINGER, BENEKE und EMMERLING, 1968; BENEKE, FINGER und EMMERLING, 1968; vgl. FINGER, HEYMER, HOF, RIETSCHEL und SCHLEIFER, 1976; FINGER, HOF, STÖCKER und HÖRANDEL, 1976; HOF, FINGER und KARLE, 1975; HOF, FINGER und WIRSING, 1976). Aus diesen Gründen haben wir uns nach vorausgegangenen qualitativen autoradiographischen Analysen (FINGER und STÖCKER, 1972) damit beschäftigt, indem wir die histoautoradiographischen Studien quantifizierten. Nach einer einmaligen intraperitonealen (i.p.) Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin wurden zu differenten Zeitpunkten nach experimenteller Induktion der Splenomegalie bei konstanter radioaktiver Versuchszeit (2 h) sowohl qualitative (FINGER und STÖCKER, 1972) als auch quantitative autoradiographische Analysen vorgenommen.

+ Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, SFB 105, Teilprojekt B 4

Dabei interessierte insbesondere die Aminosäure-Inkorporation ins Cytoplasma und auch in die mehrkernigen Megakaryozyten im Karyoplasma und schließlich die Aminosäure-Migration in Kerne mittelgroßer und großer lymphoblastischer Zellen, die sich im nachgefärbten Histoautoradiogramm deutlich von den übrigen Zellpopulationen der Milz darstellen und bestimmen lassen. Weiterhin führten wir morphometrische Bestimmungen von Kern- und Cytoplasmastrukturen durch, um dem Problem einer funktionellen Kernschwellung (STÖCKER, MAURER und ALTMANN, 1961; STÖCKER, 1962-64) nachzugehen.

Schließlich bestimmten wir die en-bloc-Aminosäure-Inkorporation in der Gesamtmilz mit Hilfe des "Liquid Scintillation Counting" nach vorausgegangener totaler rückstandsloser Gewebsveraschung, um somit eine semiquantitative Konfrontation zwischen bekannten histochemischen Untersuchungen (FINGER, BENEKE und EMMERLING, 1968; BENEKE, FINGER und EMMERLING, 1968) und den gefundenen ^{3}H-Aktivitätsmessungen vornehmen zu können.

Um einen Einblick in den endogenen Phenylalanin-Pool unter den gegebenen experimentellen Bedingungen gewinnen zu können, wurden bei Kontrollen und allen Versuchstieren Veraschungen des Lebergewebes, einem an dem immunologischen Prozeß mußmaßlich nicht beteiligten Organ, mit anschließenden ^{3}H-Aktivitätsmessungen durchgeführt. Nur so ist es möglich, eine autoradiographisch gefundene verstärkte Schwärzungsintensität mit einer synchron gleichsinnig gesteigerten zellulären Proteinbiosynthese gleichsetzen zu können und umgekehrt (Lit. bei SCHULTZE, 1968).

B. MATERIAL UND METHODIK +

1. Tiermaterial und Vorbehandlung

25 weibliche, eben ausgewachsene NMRI-Mäuse (Tierversuchsanstalt Hannover), mittleres Tiergewicht 27,4 g, Ernährung Wasser und Altromin^{R} ad lib. (Aufschlüsselung des Tiermaterials s. Tab. 1; Versuchstiere Wü 2379 - 2402) in 6 Kontrollen; 6 mit BSA (= bovine serum albumin) einmalig i.p. behandelte Tiere (4 mg BSA "reinst", Behringwerke Marburg, gelöst in 0,5 ml physiologischer NaCl-Lösung), Tötung von 3 Tieren 4 d und weiteren 3 Tieren 10 d nach der Injektion; 7 mit BSA + PO (PO = pertussis organism) behandelte Tiere (BSA wie oben, PO: $3 \cdot 10^{10}$ Organismen der Phase I, nicht adsorbiert, Behringwerke Marburg), Verdünnung unmittelbar vor Gebrauch mit physiologischer NaCl auf einen Keimgehalt von $4 \cdot 10^{9}$/ml, einmalige i.p. Injektion von 0,5 ml/Tier, Tötung von 3 Tieren 4 d und von 4 Tieren 10 d nach der Injektion; 6 allein mit PO behandelte Tiere (siehe oben), einmalige i.p. Injektion, Tötung von 3 Tieren 4 d und von 3 Tieren 10 d nach der Injektion. (Diese Vorbehandlung des Tiermaterials erfolgte durch Herrn Prof. Dr. H. FINGER, seinerzeit Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg, Dir. Prof. Dr. H. SEELIGER).

2. Applikation von ^{3}H-l-Phenylalanin

Jeweils 2 h vor der Tötung aller Tiere einmalige i.p. Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin, 855 - 870 µCi/Tier (spez. Akt.

+ Frl. Ch. KOHAUT, Frau U. TRAUTMANN, Frl. I. PFEUFFER, Frau J. SPRENGER, Frl. B. PATZER und Herrn R. KRUG danken wir für die Hilfe bei der technischen Durchführung der Untersuchungen, Herrn L. OEHRING, Institut für Pathologie der Freien Universität Berlin, Klinikum Steglitz, für die Herstellung der Mikrophotogramme.

8,5 Ci/mMol).+ Entnahme von Milz und Leber sowie anderen Organen unmittelbar nach der Tötung (Dekapitation), Fixation für 48 h in 10 %igem neutralem Formalin, zum Austausch freien, nicht an neugebildete Proteine gebundenen ^{3}H-l-Phenylalanins Zusatz von hochkonzentriertem, inaktivem l-Phenylalanin (0,5 - 1,0 mg/ml) zum Fixativum. Übliche Paraffineinbettung und Entparaffinierung. Zum nochmaligen Austausch nicht proteingebundenen ^{3}H-l-Phenylalanins Einbringen der 4 µ dicken entparaffinierten Milzschnitte in eine Waschlösung unter Zusatz von hochkonzentriertem kaltem l-Phenylalanin (0,5 - 1,0 mg/ml) für 1 h unmittelbar vor der Autoradiographie.

Von Milz und Leber zusätzliche Herstellung 20 µ dicker Schnitte nach vorausgegangener Paraffineinbettung, Entparaffinierung und Behandlung mit kaltem l-Phenylalanin wie oben unmittelbar vor der Flüssigkeitsszintillations- Spektrophotometrie. Vorbehandlung siehe B.1.

3. Autoradiographische Technik

4 µ dicke Milzschnitte, möglichst äquatoriale Schnittführung, KODAK AR 10 "stripping film" (PELC, 1947, 1956; Lit. bei SCHULTZE, 1968). Zur Depression des Nulleffektes 1 g Kaliumdicarbonat (MERCK) auf 2.000 ml aqua dest. beim Aufziehen der Filme. Exposition der Autoradiogramme in trockener Luft "drieride" bei + 4 °C, Expositionszeiten 5, 10, 20, 30, 40, 100 d. Entwicklung (KODAK, D 19, developer powder, 6 min) und Fixation (Herstellung: Natriumthiosulfat 1.200 g in 3.500 ml aqua dest. und 150 g Kaliumdisulfid in 500 ml aqua dest., mischen, filtrieren, Dauer 30 min, anschließend 30 min wässern) der Autoradiogramme unter absoluter Konstanz der

---

+ Herrn Prof. Dr. Dr. K. HEMPEL, Institut für Medizinische Strahlenkunde der Universität Würzburg (Direktor: Prof. Dr. W. MAURER), danken wir für die Tritiierung der Aminosäure.

Bedingungen, Nachfärben der Autoradiogramme mit HE, einige Autoradiogramme von 100 d Expositionszeit ungefärbt, konventionelle Eindeckung der Präparate.

4. Autoradiographische Auswertung

Bei 1000-facher Vergrößerung Bestimmung der mittleren Silberkorndichte (= Silberkornzahl/μ^2) über den Kernen von mittelgroßen und großen Blasten okularmikrometrisch, über Kernen und dem Cytoplasma von Megakaryozyten netzmikrometrisch. Aus statistischen Gründen Auswertung aller Autoradiogramme bei 5 d Expositionszeit, hierbei ist einerseits die β-Koinzidenz vernachlässigbar klein und andererseits die Silberkornzahl genügend hoch und somit der statistische Fehler der "kleinen Zahl" nur gering (vgl. SCHULTZE, 1968). Stark markierte direkt subkapsulär gelegene Areale (2 Breiten des Netzmikrometers, Abb. 1) blieben wegen zusätzlicher lokaler Vorläuferinkorporation durch lokale Resorption nach intraperitonealer Verabfolgung der ^{3}H-l-Aminosäure bei der Auswertung unberücksichtigt. Subtraktion des ermittelten Nulleffektes von den quantitativ autoradiographisch erhobenen Daten. Ausgewertete Zellzahl 100 pro Tier und Zellpopulation.

1 Kontrolle und je 1 Tier aus der Versuchsgruppe BSA, 4d; BSA + PO, 4 d; BSA, 10 d und BSA + PO, 10 d zeigten eine so starke Markierung, daß die quantitative Auswertung wegen Überschreitung des autoradiographischen Auflösungsvermögens (MAURER, 1959; SCHULTZE, 1968) und wegen des zunehmenden Fehlers durch ansteigende ^{3}H-β-Koinzidenz (DÖRMER, BRINKMANN, STIEBER und STICH, 1966; DÖRMER, 1967) problematisch erschien und diese Tiere somit in den Ergebnissen nicht berücksichtigt werden konnten. Dennoch wurde über 50 Megakaryozyten des Tieres nach BSA + PO-Applikation, 4 d, versuchsweise die Silberkorndichte ermittelt (s. Abb. 2). In den Figuren 2a, 2b sind die Werte in Klammern angegeben.

5. Gewebsveraschungen

Die zweimal mit kaltem Phenylalanin behandelten und gewaschenen (um freies, nicht an neugebildetes Protein gekoppeltes ^{3}H-l-Phenylalanin und sonstige Verunreinigungen mit ^{3}H auszuschließen) 20 µ dicken, entparaffinierten Milz- und Leberschnitte, die unter weitestgehender Konstanz der Geometrie im Anschnitt hergestellt worden waren, wurden mittels einer Rasierklinge vom Objektträger gelöst, in einem Brutschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und anschließend auf einer geeigneten Analysenwaage (METTLER) eingewogen. Die rückstandslose Veraschung erfolgte automatisch in einer Sauerstoffatmosphäre (PACKARD Oxidizer, Typ A 306), wobei 5 Schnitte pro Versuchstier, Versuchsbedingungen und Versuchsorgan herangezogen wurden.

6. "Liquid Scintillation Couting" +

Die Radioaktivitätsmessungen wurden mit Hilfe der Flüssigkeitsszintillations-Spektrophotometrie (PACKARD, Tri-Carb, Modell 2650) vorgenommen, als Szintillator diente Monophase 40 (PACKARD Instruments Company Inc., USA), Zeitvorwahl = 10 min, Impulsvorwahl = maximal ($8 \cdot 10^{6}$), Nulleffekt = kleiner als 2 %.

Zählausbeute Milz: actual efficiency 35,6 - 36,3 %, computed efficiency 35,3 - 36,1 %, channel ratio 0,636 - 0,646; Zählausbeute Leber: actual efficiency 36,5 - 40,2 %, computed efficiency 36,5 - 39,6 %, channel ratio 0,653 - 0,685. Umrechnung von dpm auf Radioaktivität in Ci oder Subeinheiten mit konstantem Faktor ($\frac{1}{2,22} \cdot 10^{-12}$) über Kalkulator. Ausdruck der Radioaktivität für die Milz (s. Fig. 5, Tab. 5) und für die Leber in µCi/mg (Fig. 6, Tab. 6).

+ Herrn Ass.-Prof. Dr. rer.nat. G. FOITZIK, Institut für Pathologie der Freien Universität Berlin, Klinikum Steglitz, danken wir für seine Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen.

C. ERGEBNISSE

1. Milz-Index

Die Figur 1 zeigt in Zahleneinheiten den sogenannten Milz-Index, worunter der Quotient Milzgewicht (mg) / Mausgewicht (g) verstanden wird. Zahlenmäßige Einzelheiten mit Abweichungen sind der Tabelle 1 zu entnehmen. In Anlehnung an die Arbeitsgruppe FINGER, BENEKE und EMMERLING (1968; Lit. bei FINGER und STÖCKER, 1972; STÖCKER und FINGER, 1972; vgl. IIDA und OKONOGI, 1971) sieht man, daß dieser Milz-Index für die mit BSA + PO sowie für die nur mit PO behandelten Versuchstiere von den dicht beieinander liegenden Kontrollwerten (= 100 %) schon bei 4 und 10 Tagen im Mittel auf 214 bis 241 % angestiegen ist. Hierbei stellen sich Schwankungen der Serien mit PO allein (△) sowie BSA + PO (o) ein. Diese belaufen sich bei 10 d nach Vorbehandlung mit BSA + PO maximal auf 349 %.

Insgesamt gesehen kann man sagen, daß im Mittel bei den Versuchstieren mehr als eine Verdopplung des Kontrollausgangswertes erreicht wird, wobei die nur mit BSA (□) behandelten Versuchstiere absolut im Kontrollbereich verharren (vgl. BAUM, 1978).

Aus der Kurve geht hervor, daß in Anlehnung an die oben erwähnten Autoren unser Versuch den gewünschten und bereits bekannten Effekt bezüglich der Splenomegalie nach PO-Applikation erkennen läßt, wobei im großen und ganzen bei Versuchstieren eine Steigerung um mehr als den Faktor 2 eingeht.

2. Quantitative Autoradiographie

a) Megakaryozyten

Die Figuren 2a und 2b belegen als Funktion der Versuchszeit nach BSA, BSA + PO und PO-Gabe das Verhalten der Silberkorn-

dichte für Megakaryozyten über dem Cytoplasma (Fig. 2a) und den Megakaryozytenkernen bzw. Kernportionen (Fig. 2b). Unter der Silberkorndichte ist definitionsgemäß die Silberkornzahl /μ^2 des jeweiligen Zellkompartiments verstanden. In beiden Figuren ist die Nullrate abgezogen worden. Die Tabellen 2a und 2b zeigen die zahlenmäßigen Einzelheiten der Meßergebnisse.

Die Kontrollen liegen im allgemeinen dicht beieinander. Der Mittelwert ist als 100 % bezeichnet worden. Lediglich eine Kontrolle (Werte in Klammern (x)) fällt mit höheren Einheiten aus dem Rahmen und ist bei der Berechnung des Mittelwertes unberücksichtigt geblieben, jedoch der Vollständigkeit halber in die Figuren 2a und 2b eingezeichnet worden. Die Versuchstiere zeigen über beiden Zellkompartimenten deutliche Steigerungen der Silberkorndichte (Abb. 3), wobei die Werte am 4. Versuchstag innerhalb der einzelnen Applikationsarten (□ = BSA, o = BSA + PO, △ = PO, aus dem Rahmen fallende Kontrolle = (x)) mit etwas stärkeren Schwankungen belastet sind, welche sich am 10. Versuchstag nivelliert haben. Insgesamt kann man sagen, daß sich der Steigerungsfaktor der Silberkorndichte auf mehr als den Faktor 1,5 beläuft, daß also die Aminosäure-Inkorporation pro Flächeneinheit der Zellkompartimente um eben diesen Faktor angehoben wird.

b) Blasten

In Analogie zur Figur 2a und 2b sind die Werte der Silberkorndichte für lymphoblastische Zellen (Kerne) unter Abzug der Nullrate in der Figur 3 in Abhängigkeit von der Versuchsdauer aufgetragen (□ = BSA, o = BSA + PO, △ = PO). Einzelne Meßdaten sind der Tabelle 3 zu entnehmen. Die in der Figur 2a und 2b über den Megakaryozyten stark nach oben herausfallende Kontrolle (x) zeigt ein derartiges Verhalten bei den Blasten nicht, sie wurde aber konsequenterweise bei der Bemessung des Mittelwertes unberücksichtigt gelassen.

Der Kurvenverlauf läßt wiederum zu 4 d einen Anstieg erkennen, der auch zu 10 d nicht wesentlich abfällt, gegenüber den Kontrollen (= 100 %) geht eine Steigerung um den Faktor 1,25 bis 1,3 ein (Tab. 3, Abb. 4a, 4b). Die Schwankungen der Silberkorndichte nach den verschiedenen Vorbehandlungsarten sind bei den lymphoblastischen Zellen im Gegensatz zu den Megakaryozyten sowohl bei Kontrollen als auch bei 4- und 10-tägigen Versuchstieren annähernd gleich. Mit zunehmender Kerngröße nimmt also die Silberkornzahl etwas stärker als flächenproportional zu, woraus eine leichte Anhebung der Silberkorndichte resultiert.

3. Morphometrie

Die Figur 4 zeigt das Verhalten der Zellflächen der Megakaryozyten und Blasten (vgl. Tab. 4). Vorausgeschickt sei, daß man bei Megakaryozyten aufgrund ihrer scharfen Determinierung der Kern- und Cytoplasmafläche exakt morphometrisch die Zellkompartimente flächenmäßig erfassen kann. Demgegenüber liegen die Verhältnisse bei den Blasten anders. Zwar ist es möglich, die Kerngröße scharf zu umschreiben, die Cytoplasmafläche aber konnte man nur unscharf umreißen. Aus diesen Gründen haben wir auf eine approximative und mit großem Fehler behaftete Angabe der Cytoplasmafläche in Blasten verzichtet. Man kann jedoch aufgrund des visuellen Aspektes im Mikroskop sagen, daß bei einer Vergrößerung der Blastenkernfläche die einzelnen Blastenkerne weiter voneinander entfernt liegen, als es bei kleineren Exemplaren der Fall ist. Dies ist nur so sinnvoll zu erklären, daß bei Kerngrößenzunahmen der Blasten die nicht sicher definierbaren Cytoplasmaflächen zugenommen haben müssen.

In der Figur 4 beinhalten die Kurvensymbole folgendes: a) belegt die Größe der Megakaryozytenzellfläche (= Cytoplasmafläche + Kernfläche von Megakaryozyten), b) bezieht sich auf die Cytoplasmaflächengröße der Megakaryozyten (= Zellflächen minus Kernflächen), c) gibt die Größe der Megakaryozytenkernfläche pro Zelle an, d) erfaßt die Kernfläche der Blasten (bezüglich der Cytoplasmafläche der Blasten siehe oben). Alle Kurven zeigen, daß am 4. und 10. Versuchstag die Flächen der entsprechenden Zellkompartimente (mit Ausnahme der Blastenkernfläche am 10. Versuchstag) über das Kontrollniveau erhaben sind.

Die Schwankungen nach den einzelnen Applikationsarten der Vorbehandlung sind nicht unwesentlich. Insgesamt gesehen liegen die morphometrisch geprüften Zellkompartimentflächen am 4. Versuchstag höher und zeigen zum 10. Tag hin bereits eine abfallende Tendenz in Richtung auf das Kontrollniveau. Der

maximal eingehende Steigerungsfaktor beläuft sich 4 d nach Vorbehandlung im Cytoplasma der Megakaryozyten auf 1,70 und in deren Kernportionen auf 1,66.

Demnach ist die Vergrößerung der Flächen der differenten Zellkompartimente bei weitem nicht so groß wie die Erhöhung der Silberkornzahl pro Zellkompartiment. Hieraus ist abzuleiten, daß die Silberkornzahl pro μ^2 (= Silberkorndichte, vgl. Abschnitt 2a) nicht unbeträchtlich ansteigt.

4. "Liquid Scintillation Counting"

a) Milz

Um uns einen Einblick darüber zu verschaffen, wieviel Radioaktivität der injizierten ^{3}H-l-Aminosäure pro Gewichtseinheit der Milz inkorporiert wird, führten wir ^{3}H-Aktivitätsmessungen in der Milz durch und bezogen die Ergebnisse auf µCi/mg Milz (trocken).

Die Tabelle 5 zeigt einen orientierenden Überblick über Kontrollen und Versuchstiere. Dabei findet man, daß die erzielten Meßdaten keine Anreicherung von ^{3}H-l-Phenylalanin pro Trockengewichtseinheit der Milz erkennen lassen. Eher zeichnet sich ein gegenteiliger Effekt ab, der aber von uns wegen der nur verhältnismäßig geringfügigen Schwankungen nicht näher interpretiert werden soll. In dieser Hinsicht ist aufschlußreich, daß effektiv gesehen die Kontrollen den höchsten Wert aufweisen (0,555) und mit Verlängerung der Versuchszeit Werte registriert werden (10 d, PO; 0,267), die etwa um den Faktor 2 niedriger liegen.

In der Spalte 2 der Tabelle 5 ist der Milz-Index (Definition siehe Abschnitt C. 1.) niedergelegt. Aus den zahlenmäßigen Auflistungen ist zu entnehmen, daß alle registrierten Werte des Milz-Indexes der Versuchstiere über dem Kontrollwert liegen.

Die Spalte 3 der Tabelle 5 ermöglicht einen Eindruck der ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation unter Berücksichtigung der PO-induzierten Splenomegalie. Ausgedrückt wurde das Produkt aus µCi/mg Milz (trocken) multipliziert mit dem Milz-Index. Da sich der Milz-Index aus Milzgewicht in mg dividiert durch Mausgewicht in g zusammensetzt, geht also das unterschiedliche Tiergewicht bei konstant hoher Dosis der applizierten Aminosäure pro Tier als regulierender Faktor bei der Berechnung der ^{3}H-Aminosäure-Inkorporation in die Gesamtmilz ein.

In der Figur 5 sind diese Ergebnisse im Säulendiagramm dargestellt, und zwar für Kontrollen (nahe der Ordinate), 4 und 10 d BSA (▨), BSA + PO (□) sowie PO (▨). Dem Säulendiagramm ist zu entnehmen, daß die ^{3}H-Aminosäure-Inkorporation in der Gesamtmilz unter Berücksichtigung des individuellen Tiergewichtes im Mittelwert bei den nur mit BSA behandelten Tieren schon bei 4 d und deutlicher bei 10 d niedriger als der Mittelwert der Kontrollen liegt. Dabei befinden die gemessenen Mittelwerte sich aber noch im Streubereich der Kontrollen.
Demgegenüber ist bei den mit BSA + PO sowie den allein mit PO behandelten Tieren die ^{3}H-l-Aminosäure-Inkorporation in der Gesamtmilz unter Berücksichtigung des individuellen Tiergewichtes beträchtlich gesteigert (Steigerungsfaktoren: 2,45 bei BSA + PO, 4 d; 1,70 bei PO, 4 d; 2,07 bei BSA + PO, 10 d; 1,28 bei PO, 10 d).

Aus den Ergebnissen des "Liquid Scintillation Counting" kann eindeutig gefolgert werden, daß die Inkorporation der l-Aminosäure pro Trockengewichtseinheit der Milz nicht erhöht - im Gegenteil sogar gemindert wird -, während auf der anderen Seite im Rahmen der experimentell induzierten Splenomegalie die ^{3}H-Aminosäure-Inkorporation der Gesamtmilz unter Berücksichtigung des individuellen Tiergewichtes bedeutend ansteigt.

Zu diesen Schlußfolgerungen ist man im vorliegenden Experiment insofern berechtigt, als die ^{3}H-Aktivitätsmessung in

der Leber (vgl. Abschnitt 4b) als "Referenzorgan" erkennen ließ, daß hier absolut "normale" Verhältnisse des Aminosäurepools vorhanden sind.

b) Leber

In der Figur 6 (zahlenmäßige Einzelheiten siehe Tabelle 6) sind die Ergebnisse der Flüssigkeitsszintillations-Spektrophotometrie pro Trockengewichtseinheit Leber wiedergegeben. Die Resultate wurden in µCi pro mg Lebergewebe (trocken) ausgedrückt, und zwar im Säulendiagramm für Kontrollen (nahe der Ordinate) und Versuchstiere 4 und 10 d nach Vorbehandlung in der Zeitskala (Abszisse; = BSA, = BSA + PO, = PO). Die maximalen und minimalen Abweichungen ( ) sind für die 6 Kontrollen sowie die 3 bzw. 4 Versuchstiere pro Zeitpunkt aufgetragen.

Die Aktivitätsmessungen der Leber nahmen wir unter der Annahme vor, daß mutmaßlich die zelluläre Aminosäure-Inkorporation in diesem Organ als Folge der Vorbehandlung nicht nennenswert verändert wird. Wie die Meßergebnisse zeigen, besteht diese Annahme zu Recht, da die Versuchstiere der differenten Vorbehandlungsarten mit ihrem Mittelwert im Streubereich der Kontrollen liegen, was wir in der Figur 6 der Übersicht halber so dargestellt haben, indem wir die maximalen und minimalen Streubande der Kontrollen quer durch die der Versuchstiere laufen ließen ( ).

D. DISKUSSION

Der Diskussion unserer Befunde möchten wir einige experimentell gesicherte oder doch zumindest wahrscheinlich gemachte Grundlagen vorausschicken. Wie MAURER (1959) gezeigt hat, beruht die autoradiographische Schwärzung nach Applikation markierter Aminosäuren auf einem peptidartigen Einbau dieser markierten Aminosäuren in die Proteine (vgl. LANG, 1955; ALLFREY, MIRSKY und OSAWA, 1955, 1957; HOAGLAND, ZAMECNIK und STEPHENSON, 1957; RAACKE, 1961). Unter der Voraussetzung, daß die mittlere spezifische Aktivität der freien Aminosäure im Verlauf der radioaktiven Versuchsdauer an allen Orten innerhalb des Organismus - oder in Orten innerhalb eines bestimmten Organs -, an denen eine Proteinsynthese stattfindet, gleich ist (vgl. hierzu DEIMEL und MAURER, 1961), kann die autoradiographische Schwärzungsintensität (Silberkornzahl pro Zelle oder Zellstruktur; Silberkorndichte = Silberkornzahl pro Flächeneinheit eines Zellkompartiments) als direktes und proportionales Maß für lokale Aminosäure-Umsatzraten in dem Sinne genommen werden, als eine Senkung der autoradiographischen Schwärzungsintensität mit einer sinnentsprechenden Minderung der zellulären Proteinsynthese und eine Steigerung der Schwärzungsintensität mit einer synchronen Anhebung der Aminosäure-Umsatzrate gekoppelt ist (NIKLAS und OEHLERT, 1956, 1957; OEHLERT, SCHULTZE und MAURER, 1958; MAURER, 1959, 1960; STÖCKER, 1962 - 63; STÖCKER, HAUSWALDT und KLINGE, 1966; STÖCKER und YOKOYAMA, 1966).

Darüber hinaus haben MAURER (1959, 1960) und weitere Autoren (MÜLLER und LINNARTZ-NIKLAS, 1960; SCHULTZE, OEHLERT und MAURER, 1960; KOBURG, 1961; TISCHENDORF und LINNARTZ-NIKLAS, 1962; HEMPEL, LENNARTZ und MAURER, 1962; MAURER, LENNARTZ und HEMPEL, 1963; HEMPEL und ERB, 1962; SCHULTZE und MAURER, 1962) bei Versuchen mit verschiedenen, zum Teil auch unterschiedlich markierten Aminosäuren eine weitgehend übereinstimmende autoradiographische Schwärzungsverteilung festgestellt. Dieser Tatbestand kann mit Recht als ein starkes

Argument dafür genommen werden, daß die Aminosäure-Inkorporation als Ausdruck einer Neubildung von Eiweißmolekülen zu deuten ist.

Weiterhin darf angenommen werden, daß der Mechanismus des Aminosäure-Einbaus auf einem Auf- und Wiederabbau von Eiweißmolekülen zurückzuführen ist (SCHULTZE, OEHLERT und MAURER, 1961; Lit. bei SCHULTZE, 1968). Sinngemäß kann demzufolge die Silberkorndichte (Silberkornzahl / μ^2) über Gewebs- oder Zellstrukturen als relatives Maß für die Größe ihres Eiweißumsatzes respektive des Migrationsumfanges von Ribonukleoproteinen gewertet werden.

Beziehen wir diese soeben geschilderten Voraussetzungen auf die Daten unserer experimentellen Studien, so kann man folgende Feststellung treffen: Die ^{3}H-Aktivitätsmessungen in der Leber als einem wahrscheinlich experimentell unbeeinflußten und somit zuverlässigen "Referenzorgan" lassen eindeutig erkennen, daß sich zwischen allen Kontrollen und allen Versuchstieren keine gravierenden oder interpretierbaren Unterschiede ergeben.

Dieses Resultat läßt folgern, daß in Referenzorganen unter der vorgenannten Behandlung der Mäuse mit BSA, BSA + PO oder PO allein der pool des endogenen freien Phenylalanins konstant gleich sein muß. Hieraus ergibt sich, daß der "artefiziell gesetzte pool" des exogen zugeführten ^{3}H-l-Phenylalanins bei allen Kontrollen und Versuchstieren in gleichem Umfang verdünnt wird (Isotopen-Verdünnungsgesetz, MAURER, 1959, 1960; SCHULTZE, 1968).

Auf der anderen Seite berechtigen uns diese Befunde ganz eindeutig alle im "Versuchsorgan" unserer Mäuse - d.h. zum Beispiel der Milz - gefundenen Änderungen autoradiographischer zellulärer Schwärzungsintensitäten als Konsequenz kausal und synchron hiermit gekoppelter und direkt proportionaler Alterationen der Aminosäure-Umsatzraten und somit der zellulären Proteinsynthese zu nehmen und dementsprechend zu interpretieren.

Aufgrund der in den vorangegangenen Abschnitten dargelegten Ergebnisse soll eine bewußt vorsichtige Diskussion der erhobenen Daten betrieben werden, zumal nach unseren Bemühungen einschlägige autoradiographische Befunde zu der hier in Rede stehenden Problematik nicht zu erheben waren.

Ohne Zweifel kann durch unsere Resultate unter Beweis gestellt werden, daß die Inkorporation der injizierten ^{3}H-Aminosäure in der Milz ganz beträchtlich gesteigert wird, wenn man den Milz-Index in eine Relation zu der gemessenen Radioaktivität pro mg Milz setzt. Das stimmt mit histochemischen Untersuchungen der Arbeitsgruppe FINGER, BENEKE und EMMERLING (1968; BENEKE, FINGER und EMMERLING, 1968, dort weitere Lit.; vgl. MORSE und BARRON, 1970) am gleichen Modell sehr gut überein, wobei diese Autoren den Gehalt von Proteinen messen, während wir die Umsatzraten einer essentiellen Aminosäure ermittelt haben.

Zur Zeit erscheint es verfrüht, diesen experimentellen Effekt überinterpretieren und in Relation zu immunologischen Aspekten setzen zu wollen. Unseres Erachtens muß man - um in dieser Hinsicht klarere Vorstellungen entwickeln zu können - noch eine Reihe experimenteller Daten sammeln. Bei aller Vorsicht der Interpretation erhobener und gesicherter Versuchsdaten muß man der Milz und ihrer zellulären Aminosäure-Inkorporation in unserem Versuchsmaterial eine entscheidende Rolle einräumen.

Die Deutung der autoradiographischen Befunde und der ^{3}H-Aktivitätsmessungen in der Milz wird im vorliegenden Versuch insofern ganz wesentlich vereinfacht, als die ^{3}H-Aktivitätsmessungen in der Leber eindeutig erkennen lassen, daß hier keine experimentelle Induktion der Aminosäure-Umsatzrate bemerkbar wird. Somit ist man in die Lage versetzt, autoradiographische Änderungen der Schwärzungsintensität gewisser Populationen lienaler Zellen im Sinne der Kausalität und Synchronie einer Steigerung der Aminosäure-Umsatzrate und damit der zellulären Proteinsynthese zu interpretieren.

Wir haben dies zunächst so versucht, daß wir in 2 im nachgefärbten Routine-Autoradiogramm gut definierbaren Zellpopulationen eine quantitative autoradiographische Analyse des ^{3}H-l-Phenylalanins vorgenommen haben. Dabei zeigt sich, daß in den sogenannten Blasten - wahrscheinlich lymphozytärer Natur - eine nicht unerhebliche Steigerung des Proteinumsatzes bemerkbar wird. Obgleich auch die Bestimmung des schmalen cytoplasmatischen Umfangs dieser Zellen auf Schwierigkeiten stieß, so konnte man eindeutig eine wenn auch nur relativ geringe Anhebung der Silberkorndichte (= Silberkornzahl/ μ^2 Kernfläche) in den Kernen dieser Zellen registrieren. Das läßt auf einen mutmaßlich sehr raschen Transport von RNP vom Cytoplasma in den Kern schließen (BASERGA und STEIN, 1971; BURDMAN, SZIJAN, FRANZONI und GARCIA ARGIZ, 1973).

Von besonderem Interesse ist das Verhalten einer gesteigerten Proteinsynthese in den Megakaryozyten - multinuklearen "Riesenzellen". Die Aminosäure-Umsatzrate ist hier eindeutig und zwar ganz beträchtlich angehoben (Fig. 2a, 2b), wobei allerdings individuelle Schwankungen von Tier zu Tier erwähnt werden müssen. In diesem Zusammenhang sei noch darauf hingewiesen, daß man bei den Megakaryozyten die Größe der Cytoplasmafläche als Ort einer lokalen Proteinsynthese sehr exakt bestimmen kann und auch hierbei eine nennenswerte Anhebung der Silberkorndichte von Kontrollen zu Versuchstieren fand. Diese Resultate sind zur Zeit noch nicht völlig eindeutig interpretierbar. So haben Untersuchungen von FINGER und Mitarbeitern (FINGER, EMMERLING und PLAGER, 1972) gezeigt, daß zwischen der Zunahme der Megakaryozyten und der im Blut zirkulierenden Thrombozyten kein direkter Zusammenhang zu bestehen scheint. Eine nicht unerhebliche Einschränkung muß man jedoch in diesem Bereich insofern treffen, als auch das Blutvolumen unter den gegebenen experimentellen Bedingungen zunimmt (FINGER, 1977, pers. Mit. an STÖCKER). Ohne exakte Kenntnis des anwachsenden Blutvolumens nach PO-Applikation kann man u.E. keine sichere Aussage über die Bedeutung der megakaryozytären Funktion auf die Blutplättchenfunktion treffen.

Schließlich erscheint es uns nicht völlig von der Hand zu weisen, daß u.U. die Megakaryozyten als pluripotente Blastemzellen für eine gesteigerte lymphozytäre Proliferation oder Lymphozytose Bedeutung haben können. Immerhin ist zumindest auffällig und durch quantitative Untersuchungen der Arbeitsgruppe FINGER (FINGER, BENEKE und EMMERLING, 1968; FINGER, HEYMER, HOF, RIETSCHEL und SCHLEIFER, 1976) belegt worden, daß eine nicht unwesentliche Lymphozytose (FINGER, HOF, STÖCKER und HÖRANDEL, 1976; EMMERLING, FINGER und BRÜSS, 1969) nach Verabfolgung von Bordetella pertussis bemerkbar wird. In dieser Hinsicht erscheint uns die Sammlung weiterer naturwissenschaftlicher Ergebnisse angebracht, um in diesen z.Zt. noch etwas unbefriedigend deutbaren Vorstellungen weiter vorankommen zu können.

Abschließend sei sowohl zur Aminosäure-Inkorporation im Cytoplasma von Blasten und Megakaryozyten als auch zur RNP-Migration dort synthetisierter Substanzen in den Zellkern respektive die Zellkerne nochmals darauf hingewiesen, daß diese Vorgänge nicht entsprechend einer Steigerung der Zell- oder Kernfläche in Proportionalität, sondern darüber hinaus erfolgen, was zu einer Anhebung der Silberkorndichte Veranlassung gibt. Es liegen demzufolge in den beiden erwähnten lienalen Zellpopulationen - besonders in den Megakaryozyten - andere Zustände vor als bei dem von BENNINGHOFF (1949/50; Lit. bei STÖCKER, 1962) untersuchten Begriff der funktionellen Zell- und Kernschwellung, wo die Aminosäure- und RNS-Neubildung unter verschiedenen experimentellen Bedingungen (z.B. pilocarpinisiertes exkretorisches Pankreas, thioacetamid-induzierte Leberintoxikation, funktionell stimuliertes pankreatisches Inselzellsystem, zelluläre Funktionssteigerung in der Adenohypophyse von Nagern) autoradiographisch überprüft worden sind (ALTMANN, 1952; STÖCKER, MAURER und ALTMANN, 1961; STÖCKER, 1962a, b, 1963, 1963/64; STÖCKER, HAUSWALDT und KLINGE, 1965; DHOM und STÖCKER, 1965; STÖCKER und YOKOYAMA, 1966; STÄDTLER, STÖCKER, DHOM und TIETZE, 1970; STÄDTLER, STÖCKER, DHOM, OPEY und HERZER, 1971).

In den von uns überprüften Milzzellen liegen vielmehr die Verhältnisse so, daß hier nicht nur eine angehobene Aminosäure-Inkorporation im Rahmen der funktionellen Zell- und Kernschwellung, sondern darüber hinaus echt überschießend im Sinne einer flächen- oder volumenproportionalen überschießenden Erhöhung der Aminosäure-Umsatzraten bemerkbar wird. Das muß sich zwangsläufig in den bedeutenden Steigerungen des "Liquid Scintillation Counting" von ^{3}H-Aminosäure-Aktivitäten in der splenomegalen Milz nach Bordetella pertussis (BSA + PO; PO) in Relation zum Milz-Index äußern.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Autoradiographische Untersuchungen und "Liquid Scintillation Countings" wurden an eben ausgewachsenen weiblichen NMRI-Mäusen durchgeführt. Die Vorbehandlung der Tiere bestand darin, daß ihnen entweder BSA oder PO (Phase I, $3 \cdot 10^{10}$ Organismen, nicht absorbiert) oder BSA + PO einmalig appliziert wurde. Die Tötung der Tiere erfolgte 4 bzw. 10 d nach dieser Vorbehandlung, wobei den Mäusen 2 h vor der Dekapitation ^{3}H-l-Phenylalanin (855 - 870 µCi/Tier, spez. Akt. 8,5 Ci/mMol) einmalig i.p. injiziert wurde.

Folgende Ergebnisse zeichneten sich ab:

1. Entsprechend vorausgegangener Untersuchungen der Arbeitsgruppe FINGER und BENEKE (FINGER, BENEKE und EMMERLING, 1968; BENEKE, FINGER und EMMERLING, 1968) stieg der Milz-Index (= Milzgewicht in mg/Mausgewicht in g) im Rahmen der PO-bedingten Splenomegalie beträchtlich an (maximaler Steigerungsfaktor in unserem Experiment = 2,4).

2. Morphometrische Meßdaten ließen den Schluß zu, daß speziell in den Megakaryozyten und auch in lymphozytoiden Blastenzellen eine Vergrößerung der Zell- und Kernfläche mit einer Anhebung der zellulären Aminosäure-Umsatzrate respektive der Migration RNP-haltigen Materials in den Kern einsetzt. Dabei erfolgt diese Zunahme einer radioaktiven Schwärzungsintensität nach ^{3}H-l-Phenylalanin-Applikation in beiden Zellarten über die Flächen- oder Volumenzunahme hinaus, d.h., die Silberkorndichte (= Silberkornzahl/μ^2) steigt an. Somit sind diese Zustände nicht mit den Daten morphologisch bekannter und autoradiographisch untersuchter Zustände einer sogenannten "funktionellen Zell- oder Kernschwellung" zu identifizieren. Sie müssen vielmehr aufgrund unserer Resultate als echte und wesentliche Stimulation einer die Zellgröße überschießenden zellulären Funktionssteigerung interpretiert werden.

3. ^{3}H-l-Phenylalanin-Aktivitätsmessungen im "Liquid Scintillation Counter" ließen folgende Schlußfolgerungen treffen:

a) Die ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation pro Trockengewichtseinheit der Milz fällt im Laufe des Versuches ab. In nicht unbeträchtlichem Ausmaß steigt demgegenüber die Aminosäure-Inkorporation pro Gesamtmilz unter Berücksichtigung des Tiergewichtes im Rahmen der PO-induzierten Splenomegalie bis zum Faktor 2,45 an (BSA + PO, 4 d).

b) Die Aminosäure-Inkorporation pro Trockengewichtseinheit der Leber als "Referenzorgan" ist bei allen Kontrollen und Versuchstieren näherungsweise konstant. Das läßt den Schluß zu, daß der pool des l-Phenylalanins durch die Vorbehandlung der Mäuse nicht pathologisch verändert wird. Auf der anderen Seite berechtigt dieser Befund, Änderungen der autoradiographischen Schwärzungsintensität über lienalen Zellen (Blasten; Megakaryozyten) als synchron und kausal mit einer Alteration der Aminosäure-Umsatzrate und somit der zellulären Proteinsynthese zu identifizieren.

4. Die erhöhte Aminosäure-Inkorporation in lymphozytoiden Blasten hängt mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit mit immunologischen, experimentell hervorgerufenen Situationen zusammen.

5. Vorsichtig wird die Deutung der absoluten Zellzunahme und der Zellvergrößerung megakaryozytärer lienaler Zellen betrieben. Auf der einen Seite wird ohne genaue Kenntnis einer durch Bordetella pertussis erhöhten Blutvolumenzunahme die Bedeutung megakaryozytärer Zellen für die entsprechende Zunahme der Blutplättchenzahl nicht in Abrede gestellt. Auf der anderen Seite wird die vorsichtige Vermutung geäußert, daß möglicherweise gewisse - wenn auch z.Zt. noch nicht völlig überschaubare - Konstellationen zwischen zahlenmäßiger Zunahme und Zellvolumenvermehrung megakaryozytärer Zellen einerseits und durch Applikation von Bordetella pertussis induzierter Erhöhung der Lymphozytenzahl andererseits existieren können.

F. ANHANG

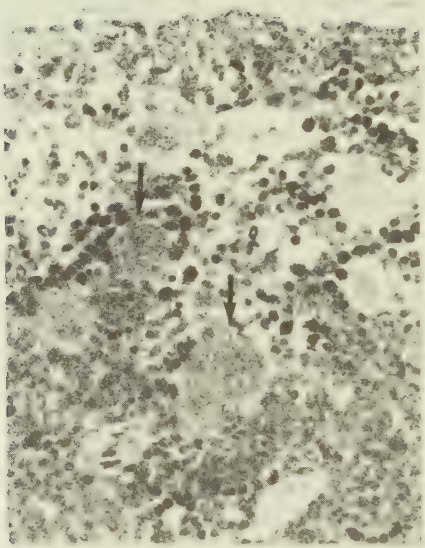


Abb.1: Nachgefärbtes Autoradiogramm (HE), Milz der Maus (eben ausgewachsen), Expositionszeit 100 d, ^{3}H-l-Phenylalanin, radioaktive Versuchszeit 2 h, 10 d nach BSA + PO-Gabe. Stark markierte Deckzellen und subkapsuläre Areale mit sehr kräftig markierten Megakaryozyten (↓). Ausdruck zusätzlicher lokaler Vorläuferresorption nach intraperitonealer Verabfolgung des ^{3}H-l-Phenylalanins. Vergrößerung 312-fach, Filter gelbgrün.

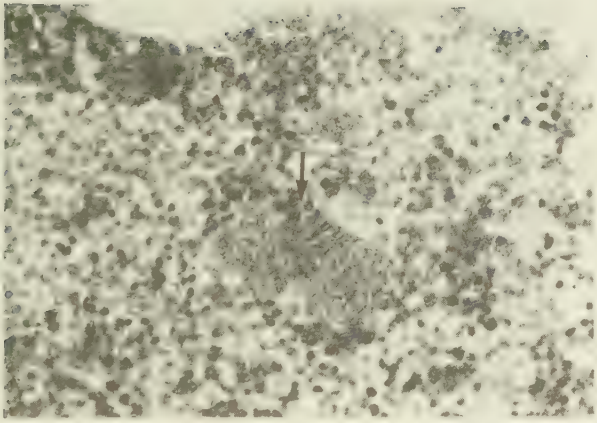


Abb.2: Nachgefärbtes Autoradiogramm (HE), Milz der Maus (eben ausgewachsen), Expositionszeit 100 d, ^{3}H-l-Phenylalanin, radioaktive Versuchszeit 2 h, 4 d nach BSA + PO-Gabe. Extrem stark markierter Megakaryozyt in Bildmitte (↓). Vergrößerung 312-fach, ohne Filter.

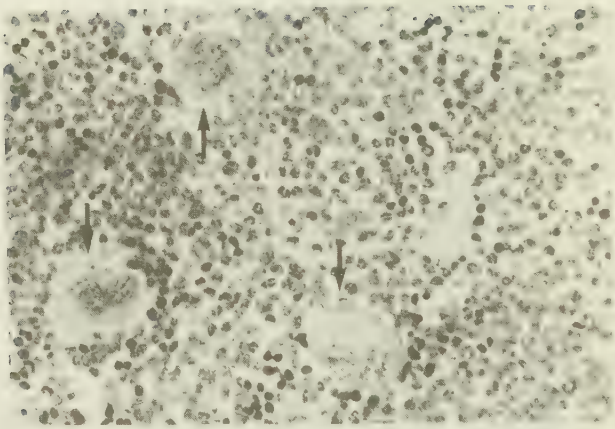


Abb.3: Nachgefärbtes Autoradiogramm (HE), Milz der Maus (eben ausgewachsen), Expositionszeit 100 d, ^{3}H-l-Phenylalanin, radioaktive Versuchszeit 2 h, 10 d nach BSA + PO-Gabe. Markierte Megakaryozyten (↓), deutliche Steigerung der Silberkorndichte über Zellkernen und Cytoplasma. Vergrößerung 312-fach, Filter gelbgrün.

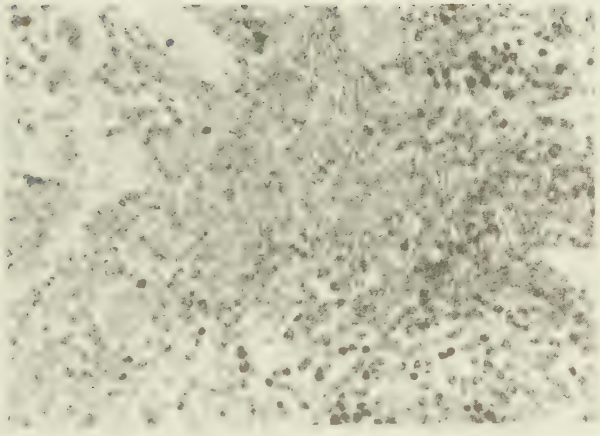


Abb.4a: Nachgefärbtes Autoradiogramm (HE), Milz der Maus (eben ausgewachsen), Expositionszeit 100 d, ^{3}H-l-Phenylalanin, radioaktive Versuchszeit 2 h, 10 d nach BSA + PO-Gabe. Markierte größere lymphoblastische Zellen (Kerne), leichte Anhebung der Silberkorndichte. Vergrößerung 312-fach, Filter gelbgrün.

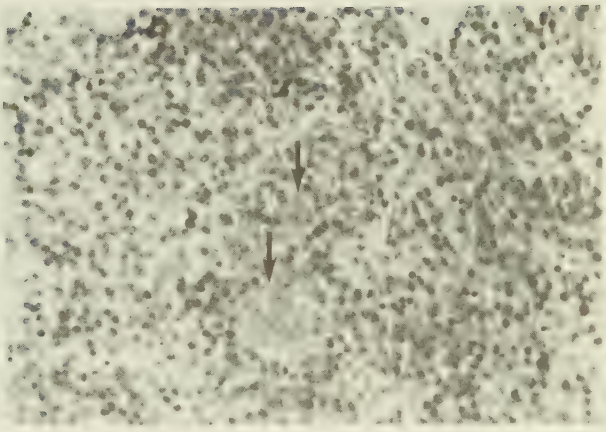


Abb.4b: Nachgefärbtes Autoradiogramm (HE), Milz der Maus (eben ausgewachsen), Expositionszeit 100 d, ^{3}H-l-Phenylalanin, radioaktive Versuchszeit 2 h, 10 d nach PO-Gabe. Markierte mittelgroße und kleinere lymphoblastische Zellen (↓), leichte Anhebung der Silberkorndichte. Vergrößerung 312-fach, ohne Filter.

Milz-Index (= mg Milzgewicht/g Mausgewicht), Kontrolle = 100 %

Maus NMRI, eben ausgewachsen

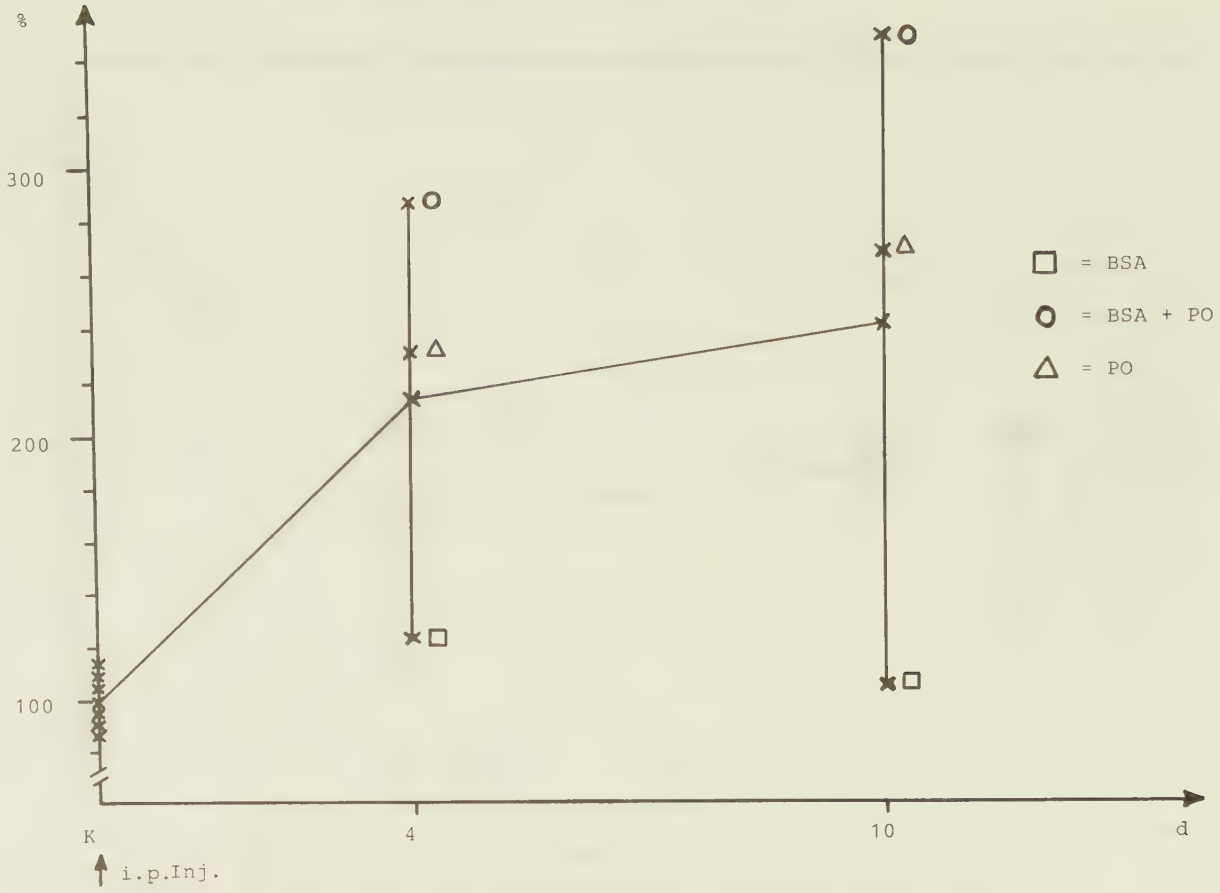
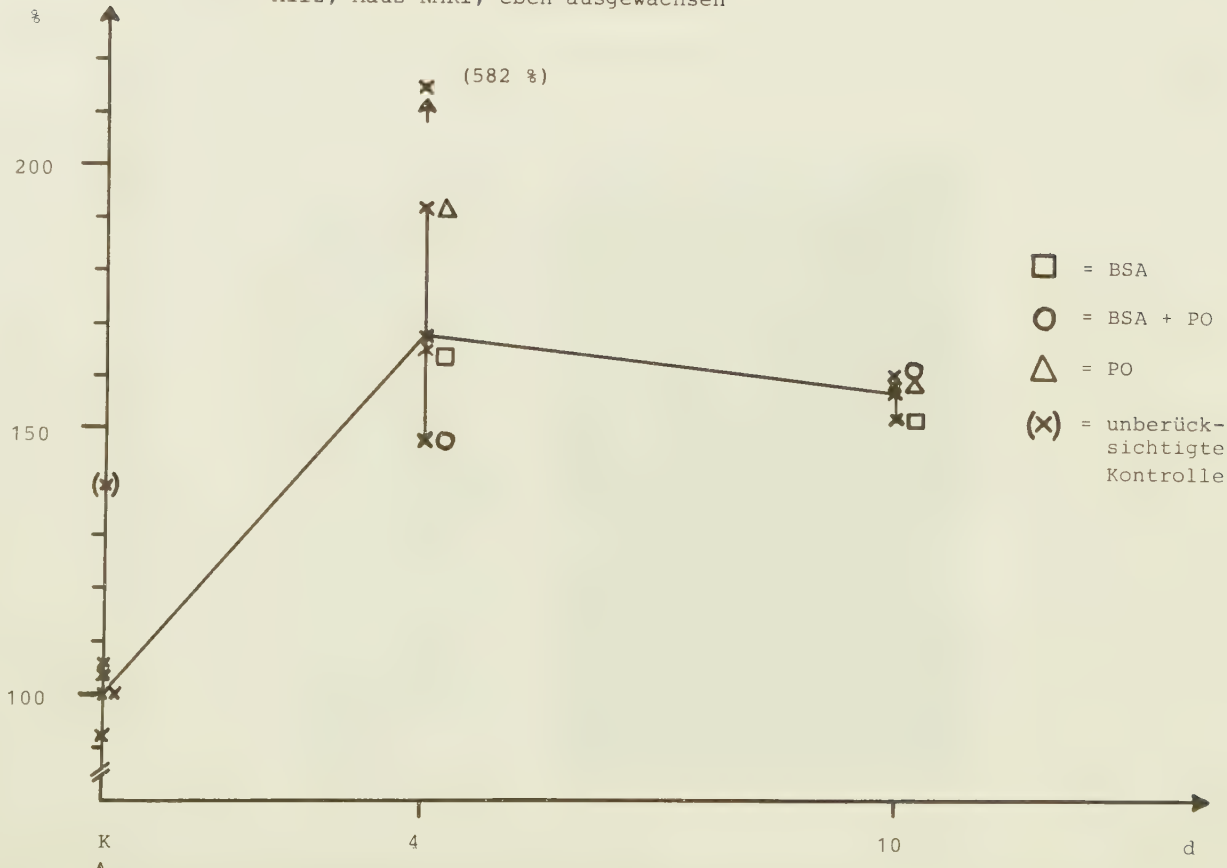


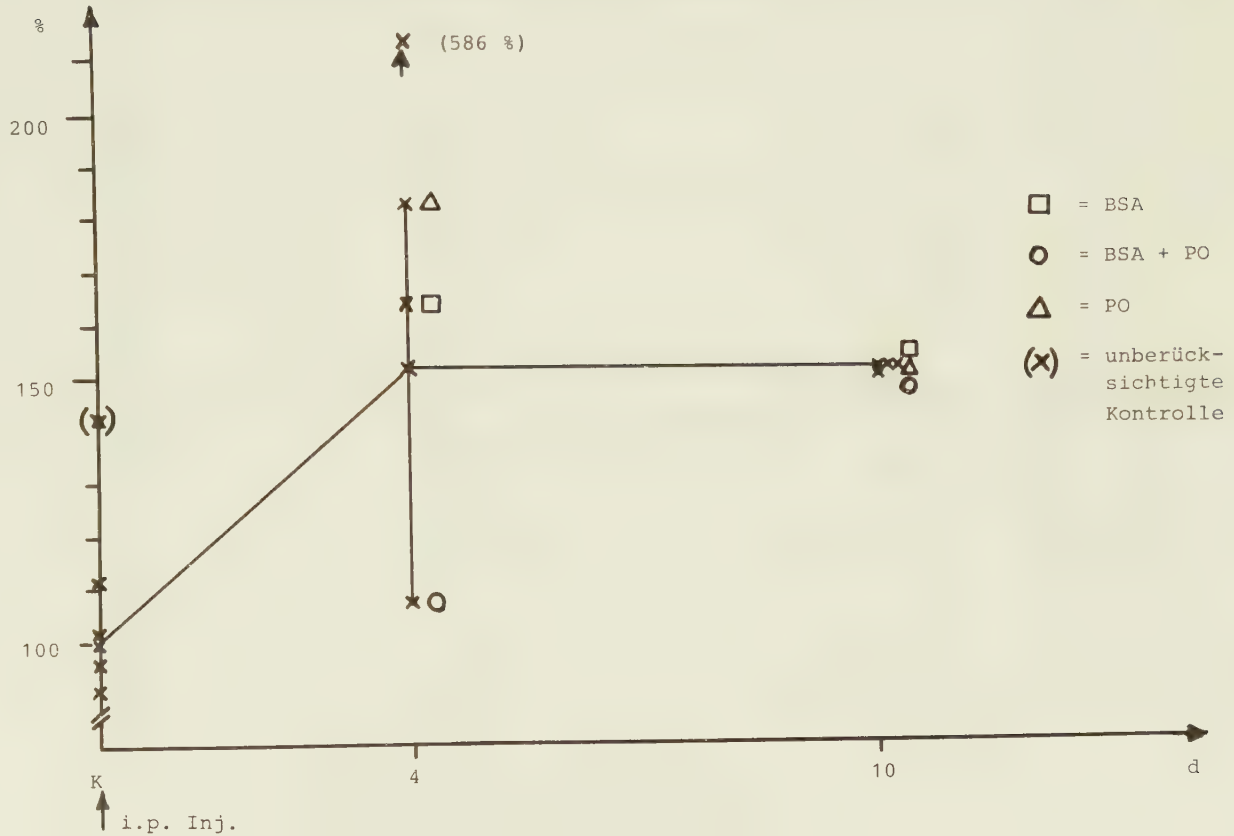
Fig. 1

Milz, Maus NMRI, eben ausgewachsen



ig. 2a

Silberkorndichte, Megakaryozyten, Kern, Kontrollen = 100 %
Milz, Maus NMRI, eben ausgewachsen



ig. 2b

Silberkorndichte, Blasten, Kern, Kontrollen = 100 %

Milz, Maus NMRI, eben ausgewachsen

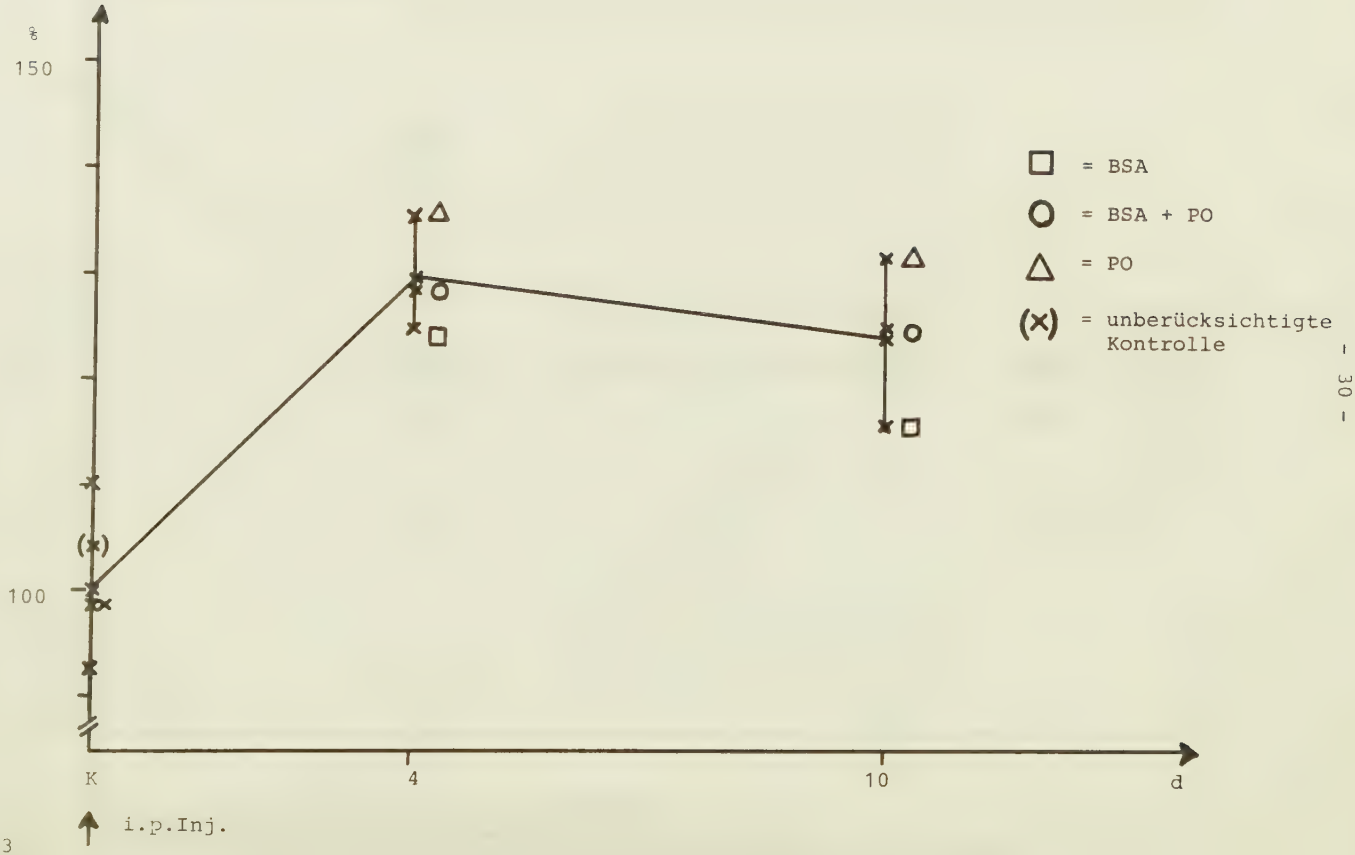


Fig.3

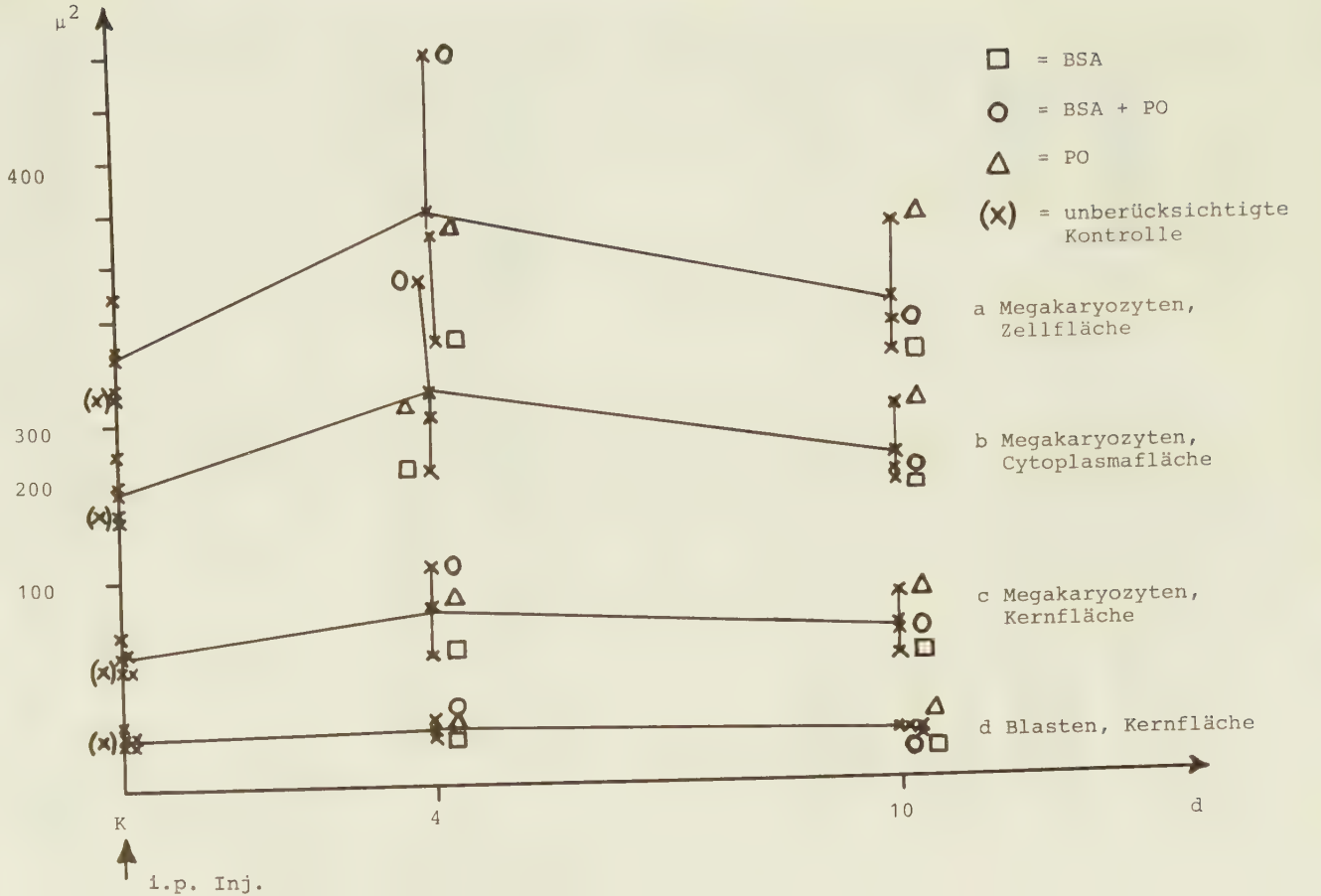
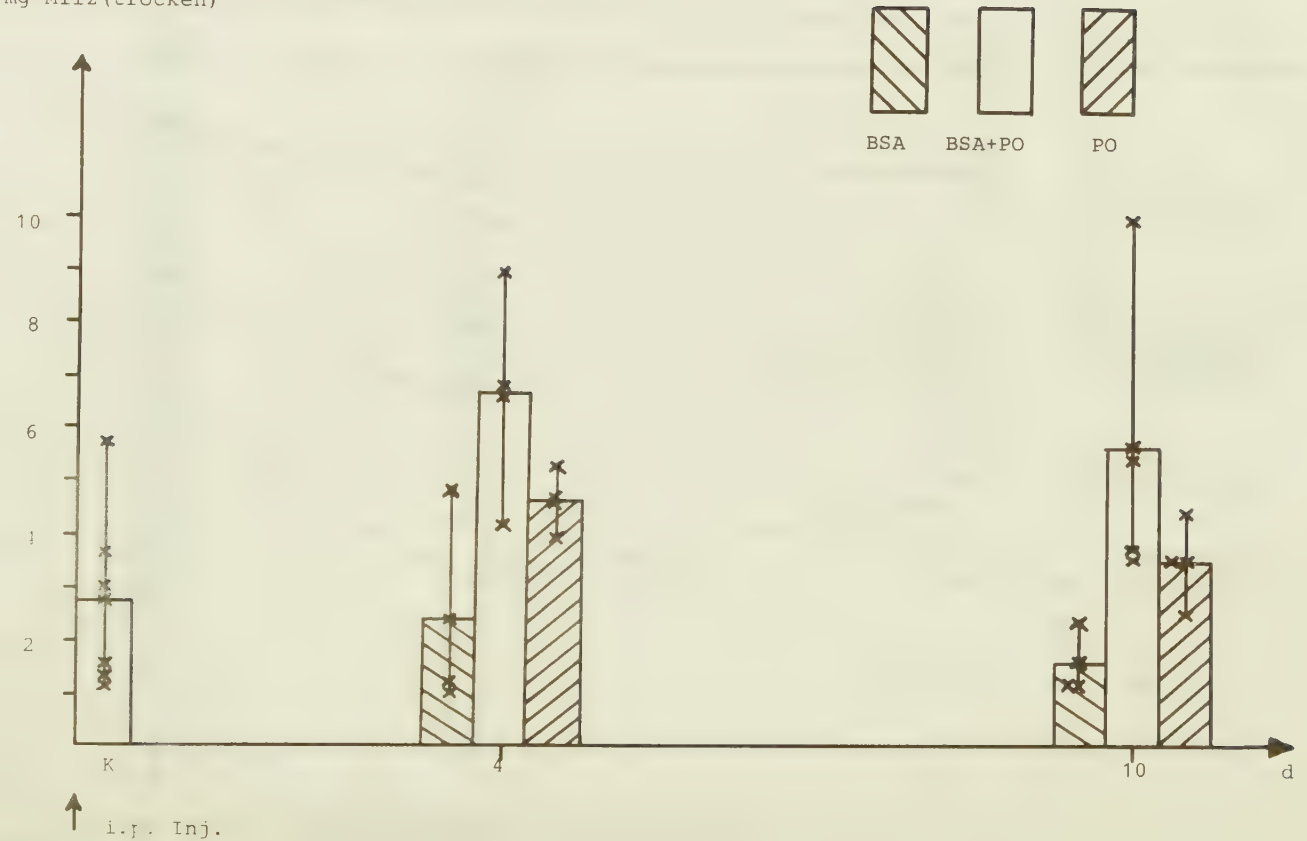

Milz, Maus NMRI, eben ausgewachsen
μ²
400
300
200
100
= BSA
= BSA + PO
= PO
(x) = unberücksichtigte Kontrolle
a Megakaryozyten, Zellfläche
b Megakaryozyten, Cytoplasmafläche
c Megakaryozyten, Kernfläche
d Blasten, Kernfläche
K
4
10
d
i.p. Inj.

Fig. 4

Liquid Scintillation Counting, Milz

Maus NMRI, eben ausgewachsen

$\frac{\mu Ci}{mg\ Milz(trocken)}$ ·Milz-Index



Maus NMRI, eben ausgewachsen

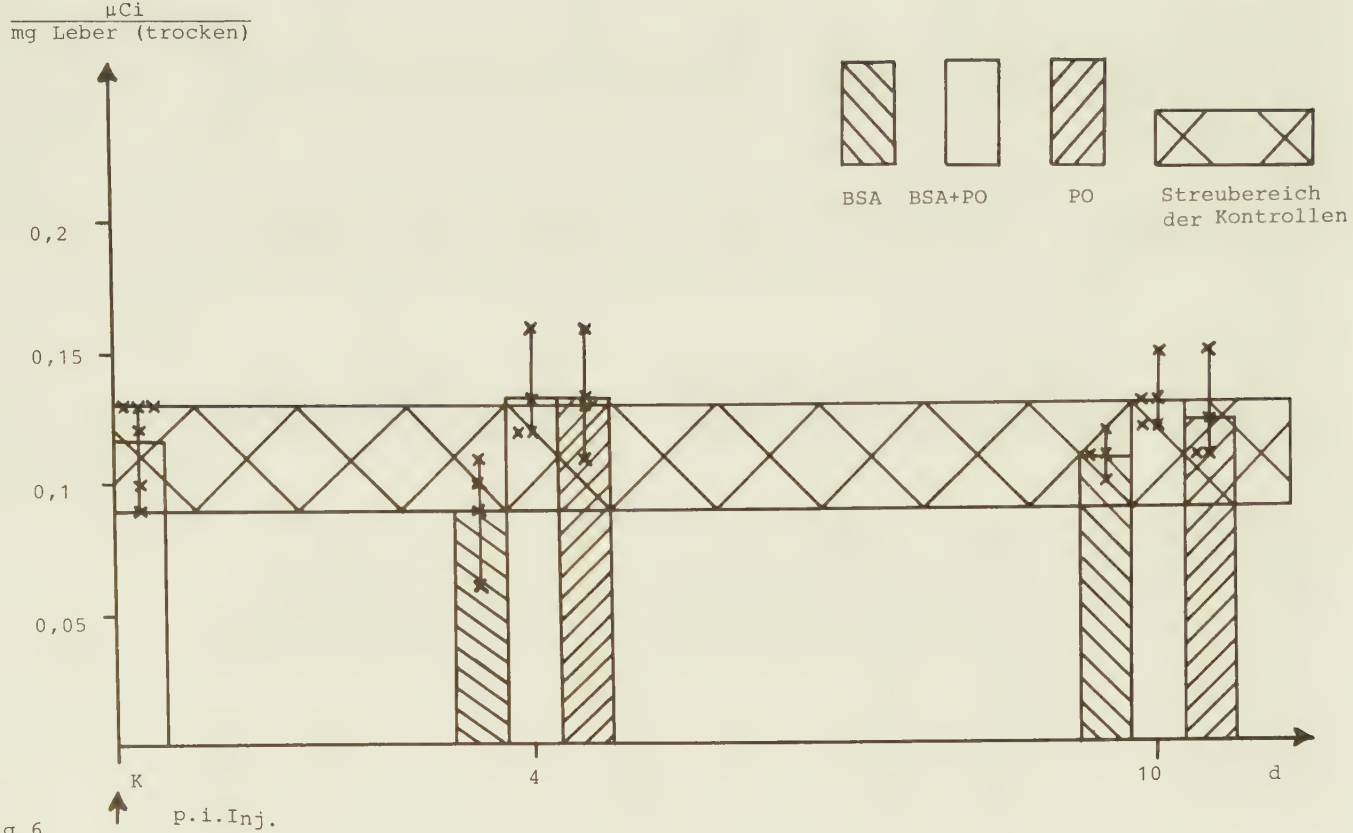


Fig.6

Tabelle 1: Milz-Index

Versuchszeit Vorbehandlung	mg Milz-gewicht	g Maus-gewicht	Milz-Index	Milz-Index in %
Kontrollen	105,5	25	4,220	86,64
	160,4	30	5,347	109,77
	127,5	25	5,100	104,70
	115,1	26	4,427	90,88
	123,9	27	4,589	94,21
	149,7	27	5,544	113,82
	130,35	26,67	4,871	100,00
BSA, 4 d	164,2	26	6,315	129,64
	115,4	25	4,616	94,76
	176,6	25	7,064	145,02
	152,07	25,33	5,998	123,14
BSA + PO 4 d	541,9	29	18,686	383,62
	358,4	28	12,800	262,78
	266,4	25	10,656	218,76
	388,90	27,33	14,047	288,38
PO, 4 d	273,8	28	9,779	200,76
	233,8	28	8,350	171,42
	468,6	30	15,620	320,67
	325,4	28,67	11,250	230,96
Mittelwert 4 d			10,432	214,17
BSA, 10 d	175,8	29	6,062	124,45
	140,7	26	5,412	111,11
	90,0	23	3,913	80,33
	135,5	26,0	5,129	105,30
BSA + PO, 10 d	352,9	26	13,573	278,65
	635,4	30	21,180	434,82
	442,3	28	15,796	324,29
	525,6	30	17,520	359,68
	489,05	28,5	17,017	349,35
PO, 10 d	323,4	35	9,240	189,69
	451,9	31	14,577	299,26
	368,7	24	15,363	315,40
	381,33	30,0	13,060	268,12
Mittelwert 10 d			11,735	240,92

Tabelle 2a: Silberkorndichte, Megakaryozyten, Cytoplasma (Nullrate abgezogen)

Versuchszeit Vorbehandlung	Silberkörner/μ^2	Silberkorndichte in %
Kontrollen	(0,2345)	(139,42)
	0,1743	103,63
	0,1548	92,03
	0,1760	104,64
	0,1677	99,70
	0,1682	100,00
BSA, 4 d	0,2777	165,10
	0,2744	163,14
	0,27605	164,12
BSA + PO, 4 d	0,2524	150,06
	0,2429	144,41
	(0,9791)	(582,10)
	0,24765	147,24
PO, 4 d	0,3789	225,27
	0,3079	183,06
	0,2824	167,90
	0,32307	192,07
Mittelwert 4 d	0,28226	167,81
BSA, 10 d	0,2443	145,24
	0,2674	158,98
	0,25585	152,11
BSA + PO, 10 d	0,2901	172,47
	0,2623	155,95
	0,2580	153,39
	0,2701	160,60
PO, 10 d	0,2601	154,64
	0,2430	144,47
	0,3011	179,01
	0,26807	159,37
Mittelwert 10 d	0,26467	157,35

Tabelle 2b: Silberkorndichte, Megakaryozyten, Kern
(Nullrate abgezogen)

Versuchszeit Vorbehandlung	Silberkörner/μ^2	Silberkorndichte in %
Kontrollen	(0,1744)	(142,83)
	0,1362	111,55
	0,1176	96,31
	0,1240	101,56
	0,1106	90,58
	0,1221	100,00
BSA, 4 d	0,1998	163,64
	0,2015	165,03
	0,20065	164,33
BSA + PO, 4 d	0,1459	119,49
	0,1156	94,68
	(0,7154)	(585,91)
	0,13075	107,08
PO, 4 d	0,2595	212,53
	0,2106	172,48
	0,2014	164,95
	0,22383	183,32
Mittelwert 4 d	0,18508	151,58
BSA, 10 d	0,1792	146,76
	0,1909	156,35
	0,18505	151,56
BSA + PO, 10 d	0,1871	153,24
	0,1849	151,43
	0,1786	146,27
	0,18353	150,31
PO, 10 d	0,1730	141,69
	0,1594	130,55
	0,2223	182,06
	0,1849	151,43
Mittelwert 10 d	0,18449	151,10

Tabelle 3: Silberkorndichte, Blasten, Kern
(Nullrate abgezogen)

Versuchszeit Vorbehandlung	Silberkörner/μ^2	Silberkorndichte in %
Kontrollen	(0,353)	(104,28)
	0,333	98,38
	0,373	110,19
	0,314	92,76
	0,334	98,67
	0,3385	100,00
BSA, 4 d	0,412	121,71
	0,432	127,62
	0,422	124,67
BSA + PO, 4 d	0,423	124,96
	0,447	132,05
	0,435	128,51
PO, 4 d	0,488	144,17
	0,466	137,67
	0,423	124,96
	0,459	135,60
Mittelwert 4 d	0,4387	129,60
BSA, 10 d	0,394	116,40
	0,389	114,92
	0,3915	115,66
BSA + PO, 10 d	0,409	120,83
	0,383	113,15
	0,475	140,32
	0,4223	124,76
PO, 10 d	0,448	132,35
	0,427	126,14
	0,462	136,48
	0,4457	131,67
Mittelwert 10 d	0,4199	124,05

Tabelle 4: Morphometrie, Megakaryozyten, Blasten (Kerne)

Vorbehandlung	Megakaryozyten			Blasten
Versuchszeit	Zellfläche μ^2	Cytoplasma μ^2	Kern μ^2	Kern μ^2
Kontrollen	(251,5)	(175,4)	(76,2)	(32,8)
	254,1	177,8	76,3	41,5
	251,7	173,3	78,4	34,0
	314,1	215,2	98,9	29,9
	280,0	193,1	86,9	30,3
	275,0	189,9	85,1	33,9
BSA, 4 d	243,6	163,3	80,3	32,7
	323,1	234,1	89,0	31,3
	283,4	198,7	84,7	32,0
BSA + PO, 4 d	437,3	303,4	133,9	42,3
	492,0	344,3	147,7	45,0
	467,7	323,9	140,8	43,7
PO, 4 d	313,5	200,2	113,3	32,0
	387,6	275,8	111,8	43,1
	357,9	237,4	120,5	36,6
	353,0	237,8	115,2	37,2
Mittelwert 4d	368,03	253,47	113,57	37,63
BSA, 10 d	295,7	210,9	84,8	30,4
	249,8	174,9	74,9	26,8
	272,8	192,9	79,9	28,6
BSA + PO, 10 d	247,2	160,2	87,0	32,7
	324,0	210,9	113,1	30,4
	306,0	218,6	87,4	29,2
	292,4	196,6	95,8	30,8
PO, 10 d	389,4	257,2	132,2	30,9
	338,2	232,0	106,2	32,6
	341,6	221,9	119,7	31,8
	356,4	237,0	119,4	31,8
Mittelwert 10 d	307,20	208,83	98,37	30,40

Tabelle 5: Liquid Scintillation Counting, Milz

Versuchszeit Vorbehandlung	µCi/mg Milz (trocken)	Milz-Index	µCi/mg Milz (trocken) mal Milz-Index
Kontrollen	0,71	4,220	2,996
	1,07	5,347	5,721
	0,72	5,100	3,672
	0,35	4,427	1,549
	0,24	4,589	1,101
	0,24	5,544	1,331
	0,555	4,871	2,728
BSA, 4 d	0,19	6,315	1,200
	0,22	4,616	1,016
	0,69	7,064	4,874
	0,367	5,998	2,363
BSA + PO, 4 d	0,48	18,686	8,969
	0,33	12,800	4,224
	0,64	10,656	6,820
	0,483	14,047	6,671
PO, 4 d	0,48	9,779	4,694
	0,47	8,350	3,925
	0,34	15,620	5,311
	0,430	11,250	4,643
BSA, 10 d	0,39	6,062	2,364
	0,21	5,412	1,137
	0,29	3,913	1,135
	0,297	5,129	1,545
BSA + PO, 10 d	0,26	13,573	3,529
	0,47	21,180	9,955
	0,23	15,796	3,633
	0,31	17,520	5,431
	0,318	17,017	5,637
PO, 10 d	0,27	9,240	2,495
	0,24	14,577	3,498
	0,29	15,363	4,455
	0,267	13,060	3,483

Tabelle 6: Liquid Scintillation Counting, Leber

Vorbehandlung	µCi/mg Leber (trocken)	
Kontrollen	0,13	
	0,13	
	0,10	
	0,09	
	0,13	
	0,12	
	0,117	
	4 d	10 d
BSA	0,06	0,10
	0,11	0,11
	0,10	0,12
	0,090	0,110
BSA + PO	0,12	0,13
	0,12	0,15
	0,16	0,12
		0,12
	0,133	0,130
PO	0,13	0,11
	0,16	0,11
	0,11	0,15
	0,133	0,123

Herrn Professor Dr. E. Stöcker, damaliger Lehrstuhlinhaber an der Freien Universität Berlin, Klinikum Steglitz, Institut für Pathologie, danke ich herzlich für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas, für die Hilfe und Anleitung bei der Durchführung der Arbeit und ihre Auswertung sowie für die Übernahme des Referates.

Herrn Professor Dr. H.-W. Altmann, Direktor des Pathologischen Instituts der Universität Würzburg, danke ich für die Übernahme des Korreferates und dafür, daß ich die Versuche und Arbeiten teilweise in seinem Institut vornehmen konnte.

Herrn Professor Dr. H. Finger, Direktor des Hygiene-Instituts der Städtischen Krankenanstalten Krefeld, bin ich für die Betreuung des immunologischen Teils der Experimente und seinen Rat bei der Diskussion der immunologischen Aspekte sehr zu Dank verpflichtet.

G. LITERATURVERZEICHNIS

ALLFREY, V.G., A.E. MIRSKY and S. OSAWA
Protein synthesis in isolated cell nuclei.
Nature (London) 176, 1042-1049 (1955)

ALLFREY, V.G., A.E. MIRSKY and S. OSAWA
Protein synthesis in isolated cell nuclei.
J.Gen.Physiol. 40, 451-490 (1957)

ALTMANN, H.-W.
Über den Funktionsformwechsel des Kernes im exokrinen Gewebe des Pankreas.
Z.Krebsforsch. 58, 632-645 (1952)

BASERGA, R. and G. STEIN
Nuclear acidic proteins and cell proliferation.
Fed.Proc. 30, 1752-1759 (1971)

BAUM, K.
Umfang und zeitlicher Ablauf der Proliferation lienaler Zellen eben ausgewachsener weiblicher Mäuse nach Applikation von Bordetella pertussis.
Med.Inaug.-Diss., Würzburg (1978)

BENEKE, G., H. FINGER und P. EMMERLING
Einfluß von Bordetella pertussis auf das lymphatische Gewebe von Mäusen. II. Proliferierende Zellsysteme in der Milz nach Injektion von Bordetella pertussis.
Z.med.Mikrobiol.Immunol. 154, 178-195 (1968)

BENNINGHOFF, A.
Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung.
Anat.Nachr. 1, 50-52 (1949/50)

BURDMAN, J.A., I. SZIJAN, L. FRANZONI and C.A. CARCIA ARGIZ
The relationship between DNA synthesis and nuclear proteins in the cerebrum and cerebellum of 8-day-old rats. J.Neurochem. 20, 1719-1725 (1973)

DEIMEL, M., und W. MAURER
Konzentration und Austauschrate des freien Methionins in Muskel und Leber der Ratte. Biochem.Z. 334, 462-472 (1961)

DHOM, G., und E. STÖCKER
Autoradiographische Untersuchungen zur nuklearen RNS-Synthese in den verschiedenen Zelltypen des Hypophysenvorderlappens der Ratte. Verh.Dtsch.Ges.Path. 49, 320-323 (1965)

DÖRMER, P.
Auflichtphotometrische Untersuchungen zur Größe der Koinzidenz in der Autoradiographie mit Tritium. Histochemie 8, 1-8 (1967)

DÖRMER, P., W. BRINKMANN, A. STIEBER und W. STICH
Automatische Silberkornzählungen in der Einzelzell-Autoradiographie. Klin.Wschr. 44, 477-482 (1966)

EMMERLING, P., H. FINGER and R. BERTZ
Nonappearance of splenomegaly after injection of killed Bordetella pertussis cells into aged mice. Experientia 27, 1216-1217 (1971)

EMMERLING, P., H. FINGER und E. BRÜSS
Einfluß von Bordetella pertussis auf das lymphatische Gewebe von Mäusen. V. Der Einfluß von Bordetella pertussis auf die Präparation des lymphoretikulären Gewebes für die immunologische Zweitreaktion. Z.med.Mikrobiol.Immunol. 155, 48-64 (1969)

FINGER, H. — Pers. Mit. an E. STÖCKER (1977)

FINGER, H., G. BENEKE und P. EMMERLING — Einfluß von Bordetella pertussis auf das lymphatische Gewebe von Mäusen. I. Erhöhung der Milzgewichte weißer Mäuse nach Injektion von Bordetella pertussis. Z.med.Mikrobiol.Immunol. 154, 23-34 (1968a)

FINGER, H., G. BENEKE und P. EMMERLING — Hypersplenie der Maus nach Injektion von Bordetella pertussis. Z.Naturforsch.(B) 23, 288-289 (1968b)

FINGER, H., und P. EMMERLING — Einfluß von Bordetella pertussis auf das lymphatische Gewebe von Mäusen. IV. Der Einfluß von Bordetella pertussis auf die Kinetik der Antikörperbildung bei mit Cyclophosphamid behandelten Mäusen. Z.Immun.-Forsch. 136, 351-361 (1968a)

FINGER, H., and P. EMMERLING — The influence of Bordetella pertussis on the kinetics of antibody production to sheep red blood cells in NMRI mice. Experientia 24, 832-833 (1968b)

FINGER, H., P. EMMERLING and L. PLAGER — Hematopoietic changes in NMRI mice after the intravenous and subcutaneous injection of Bordetella pertussis vaccine. Experientia 28, 1484-1486 (1972)

FINGER, H., B. HEYMER, H. HOF, E. RIETSCHEL und K.H. SCHLEIFER — Struktur und biologische Aktivität von Bordetella pertussis-Endotoxin. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.A 235, 56-64 (1976)

FINGER, H., H. HOF, E. STÖCKER und H. HÖRANDEL — Zur Entstehung der Lymphozytose beim Keuchhusten. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.A 235, 65-70 (1976)

FINGER, H., and E. STÖCKER — Increased protein synthesis of spleen cells after injection of Bordetella pertussis into mice. Beitr.Path. 146, 381-388 (1972)

HEMPEL, K., und W. ERB — Autoradiographische Untersuchungen zum Eiweiß- und Melanin-Stoffwechsel der verschiedenen Zellarten des Melanoms der Maus (Typ Harding-Passey). Z.Zellforsch. 58, 125-140 (1962)

HEMPEL, K., K.-J. LENNARTZ und W. MAURER — Autoradiographische Untersuchung zum Eiweißstoffwechsel im Kern und Cytoplasma der normalen und durch Buttergelb cancerisierten Leberzelle. Beitr.path.Anat. 126, 381-394 (1962)

HOAGLAND, M.B., P. ZAMECNIK and M.L. STEPHENSON — Intermediate reactions in protein biosynthesis. Biochim.biophys.Acta 24, 215-216 (1957)

HOF, H., H. FINGER and E. KARLE — Influence of Bordetella pertussis and bacterial endotoxins on the immunological reactivity of germfree mice. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.A 232, 73-82 (1975)

HOF, H., H. FINGER und C. WIRSING — Vermehrung von rezirkulierenden immunkompetenten Lymphozyten durch Bordetella pertussis. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.A 235, 71-77 (1976)

IIDA, T., and T. OKONOGI — Lienotoxicity of Bordetella pertussis in mice. J.med.Microbiol. 4, 51-61 (1971)

KOBURG, E. — Autoradiographische Untersuchungen zum Eiweißstoffwechsel der Zellen des Knorpels und Knochens. Beitr.path.Anat. 124, 108-135 (1961)

LANG, K. — Die Fermentsysteme der Zelle. Klin.Wschr. 33, 300-305 (1955)

MAURER, W. — Grundlagen der Technik des Arbeitens mit radioaktiven Isotopen. In: Handb.Neurochir. Bd.I/1, S.547-658 Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1959)

MAURER, W. — Die Größe des Umsatzes von Organ- und Plasmaeiweiß. In: Dynamik des Eiweißes. 10.Colloq. Ges.physiol.Chem., Mosbach, April 1959. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1960)

MAURER, W., K.-J. LENNARTZ und K. HEMPEL — Über eine Deutung der Autoradiogramme mit markierten Aminosäuren durch ein allgemeingültiges zelluläres Inkorporationsschema und Einfluß der Cancerisierung durch Buttergelb (DAB). Vortrag 5.Internat.Symposion: Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung, Bad Gastein, 1962. Strahlentherapie, Sonderbd.53, 512-524 (1963)

MORSE, S.I., and B.A. BARRON — Studies on the leukocytosis and lymphocytosis induced by Bordetella pertussis. III. The distribution of transfused

lymphocytes in pertussis-treated and normal mice.
J.Exp.Med. 132, 663-672 (1970)

MÜLLER, H.G., und A. LINNARTZ-NIKLAS — Autoradiographische Untersuchungen über die Größe der Eiweißsynthese der weiblichen Genitalorgane im Metoestrus bei Ratte und Maus.
Arch.Gynäk. 194, 48-62 (1960)

NIKLAS, A., und W. OEHLERT — Autoradiographische Untersuchung der Größe des Eiweißstoffwechsels verschiedener Organe, Gewebe und Zellarten.
Beitr.path.Anat. 116, 92-123 (1956)

NIKLAS, A., und W. OEHLERT — Autoradiographische Untersuchung der Größe des Eiweißstoffwechsels verschiedener Organe, Gewebe und Zellarten.
Acta histochem.(Jena) 4, 166-170 (1957)

OEHLERT, W., B. SCHULTZE und W. MAURER — Autoradiographische Untersuchung der Größe des Eiweißstoffwechsels der verschiedenen Zellen des Zentralnervensystems.
Beitr.path.Anat. 119, 343-376 (1958)

PELC, S.R. — Autoradiograph technique.
Nature (London) 160, 749-750 (1947)

PELC, S.R. — The stripping-film technique of autoradiography.
Int.J.appl.Radiat. 1, 172-177 (1956)

RAACKE, I.D. — Studies on protein synthesis with ribonucleoprotein particles from Pea seedling.
II. The effect of exogenous amino acids.
Biochim.biophys.Acta 51, 73-84 (1961)

SCHULTZE, B. — Orthologie und Pathologie des Nukleinsäure- und Eiweiß-Stoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. In: Handb.Allgem.Path. Bd.II/5, S.466-670. Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1968)

SCHULTZE, B., and W. MAURER — Comparative autoradiographic study of the RNA and protein metabolism within the various tissues and cells of the mouse with tritiated RNA precursors and labelled amino acids. In: Tritium in the physical and biological sciences, vol.II, p.229-236. I.A.E.A.: Vienna, 1962

SCHULTZE, B., W. OEHLERT und W. MAURER — Vergleichende autoradiographische Untersuchung mit ^{3}H-, ^{14}C- und ^{35}S-markierten Aminosäuren zur Größe des Eiweißstoffwechsels einzelner Gewebe und Zellarten bei Maus, Ratte und Kaninchen. Beitr.path.Anat. 122, 406-431 (1960)

SCHULTZE, B., W. OEHLERT und W. MAURER — Über eine allgemeine Beziehung zwischen der Umsatzrate der Ribonukleinsäure und des Eiweißes im Organismus von Maus und Ratte. Biochim.biophys.Acta (Amst.) 49, 35-46 (1961)

STÄDTLER, F., E. STÖCKER, G. DHOM, P.P. OPEY und R. HERZER — Autoradiographische Untersuchungen zum Eiweißstoffwechsel der gonadotropen Zellen im Hypophysenvorderlappen kastrierter männlicher Ratten. Virchows Arch.Abt.B Zellpath. 8, 106-123 (1971)

STÄDTLER, F., E. STÖCKER, G. DHOM and H.U. TIETZE
Autoradiographic studies on nuclear DNA and RNA synthesis in the adenohypophysis of castrated rats.
Acta endocr.(Kbh.) 64, 324-338 (1970)

STÖCKER, E.
Autoradiographische Untersuchungen zur Ribonukleinsäure- und Eiweiß-Synthese im nuklearen Funktionsformwechsel der exokrinen Pankreaszelle.
Z.Zellforsch. 57, 145-171 (1962a)

STÖCKER, E.
Autoradiographische Untersuchungen zur funktionellen Kernschwellung.
Verh.Dtsch.Ges.Path. 46, 330-333 (1962b)

STÖCKER, E.
Autoradiographische Untersuchungen zur Deutung der funktionellen Kernschwellung am exokrinen Pankreas.
Z.Zellforsch. 57, 47-62 (1962c)

STÖCKER, E.
Studien zur zellulären Eiweiß- und Ribonukleinsäure-Synthese in normalen und durch Thioacetamid beeinflußten Leberzellen der Ratte.
Habilitationsschrift, Würzburg (1963a)

STÖCKER, E.
Zur Frage der funktionellen und pathologischen Kernschwellung. (Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Phenylalanin und ^{3}H-Cytidin an der Rattenleber nach Thioacetamid).
Naturwissenschaften 50, 130 (1963b)

STÖCKER, E.
Die Größe des Nukleolus als Maß seiner synthetischen Aktivität. (Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Cytidin und ^{3}H-Phenylalanin).
Naturwissenschaften 50, 44-45 (1963c)

STÖCKER, E. Autoradiographische Untersuchungen zur Aminosäure-Inkorporation im Nukleolus. Z.Zellforsch. 58, 790-797 (1963d)

STÖCKER, E. Autoradiographische Untersuchungen zur funktionellen und pathologischen Kernschwellung in der Rattenleber nach Fütterung von Thioacetamid. Z.Zellforsch. 62, 80-97 (1964a)

STÖCKER, E. Autoradiographische Studien zum Einfluß von Thioacetamid auf den zellulären Eiweiß- und Nukleinsäurestoffwechsel in Leberzellen der Ratte. Beitr.path.Anat. 129, 247-295 (1964b)

STÖCKER, E., and H. FINGER Autoradiographic studies on cell proliferation during splenomegalie induced by Bordetella pertussis in mice. Virchows Arch. Abt.B Zellpath. 10, 179-183 (1972)

STÖCKER, E., Ch. HAUSWALDT und O. KLINGE Zur zellulären Aminosäure-Inkorporation im in- und exkretorischen Pankreas unter experimentellen Bedingungen. Experientia (Basel) 21, 511 (1965)

STÖCKER, E., Ch. HAUSWALDT und O. KLINGE Autoradiographische Untersuchungen zum Nukleinsäure- und Eiweißstoffwechsel der Inselzellen von Ratten unter normalen und pathologischen Bedingungen. Beitr.path.Anat. 133, 1-40 (1966)

STÖCKER, E., W. MAURER und H.-W. ALTMANN Autoradiographische Untersuchungen der Eiweiß- und RNS-Synthese mit ^{3}H-Leucin und ^{3}H-Cytidin zur Deutung der funktionellen Kernschwellung während des Funktionsformwechsels im exokrinen Pankreas. Klin.Wschr. 39, 926-927 (1961a)

STÖCKER, E., W. MAURER und H.-W. ALTMANN — Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Cytidin über die RNS-Synthese im Nukleolus und Kern und die Migration der RNS zum Cytoplasma während des Funktionsformwechsels im exokrinen Pankreas. Naturwissenschaften 48, 582-583 (1961b)

STÖCKER, E., und T. YOKOYAMA — Autoradiographische Studien zum Einfluß von Thioacetamid auf die RNS-Migration und DNS-Synthese verschiedener parenchymatöser Zellen der Ratte. Beitr.path.Anat. 134, 1-28 (1966)

TISCHENDORF, F. und A. LINNARTZ-NIKLAS — Autoradiographische Untersuchungen des Eiweißstoffwechsels der Säugermilz nach Gabe von ^{35}S-, ^{14}C- und ^{3}H-markierten Aminosäuren. Acta Anat.(Basel) 48, 7-45 (1962)

LEBENSLAUF

Name:	Krammenschneider
Vorname:	Dietmar
geboren am:	27. Juli 1949 in Bielefeld
Eltern:	Karl Krammenschneider und Ehefrau Anna, geb. Michelus
Schulen:	1956 bis 1960 Volksschule in Bielefeld 1960 bis 1966 Realschule in Bielefeld 1966 bis 1968 Gymnasium in Bielefeld-Bethel Abitur Mai 1968
Hochschule:	Sommersemester 1969 bis Wintersemester 1975 Studium der Humanmedizin in Würzburg Physikum Wintersemester 1971/72 in Würzburg
Staatsexamen:	November 1975 in Würzburg
Medizinalassistenten-tenzeit:	Vom 1.9.1976 bis 31.3.1977 Pathologie in Berlin (Klinikum Steglitz) Vom 1.4.1977 bis 31.7.1977 Chirurgie in Berlin (Klinikum Steglitz) Vom 1.8.1977 bis 30.11.1977 Innere in Wertheim/Main
Approbation:	8.12.1977 Seit dieser Zeit Tätigkeit als Assistenzarzt in der inneren Abteilung des Krankenhauses Wertheim/Main

Dietmar Krammenschneider

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80